

Adamma Anyanwu  
Dr. med.

## **Auswirkungen des Wnt Signalweges auf kultivierte neonatale Kardiomyozyten**

Geboren am 07.02.1978 in Münster  
(Staats-)Examen am 13.10.2006 an der Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg

Promotionsfach: Innere Medizin  
Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. med. S.E. Hardt

Die kardiale Hypertrophie ist Ausgangspunkt pathologischer Prozesse in vielen kardiovaskulären Erkrankungen. In modernen Therapiekonzepten setzt sich der Grundgedanke immer mehr durch, neben dem Ziel der Minimierung bzw. Behandlung kardialer Risikofaktoren, die kardiale Hypertrophie zu therapieren, bevor diese über Umbauprozesse zum Herzversagen führt. Seitdem man herausgefunden hat, dass der Wnt Signalweg auch bei der Entwicklung kardiovaskulärer Erkrankungen eine wichtige Rolle spielt, ist das wissenschaftliche Interesse an diesem Signalweg im Hinblick auf die Entwicklung neuer Therapiekonzepte für die kardiale Hypertrophie zunehmend.

In der vorliegenden Arbeit wurde daher das Ziel angestrebt die Auswirkungen der Aktivierung des Wnt Signalweges auf Kardiomyozyten zu untersuchen. Zu diesem Zweck wurden Kardiomyozyten zum einen mit konditioniertem Wnt3a Medium stimuliert und zum anderen mit rekombinierten Adenoviren transduziert, die eine Überexpression von dem Protein Dvl-1, einem positiven Regulator des Wnt Signalweges, in den Kardiomyozyten herbeiführten. Ferner wurden noch drei weitere Adenoviren generiert, Dvl-1- $\Delta$ DIX, Dvl-1- $\Delta$ PDZ und Dvl-1- $\Delta$ DEP, denen je eine der konservierten Domänen in der Dvl-1-Gensequenz fehlte, um die Relevanz der Domänen von Dvl-1 zu untersuchen. Bei den Experimenten wurden die vier Hypertrophie-Marker, Zellgröße, Zellorganisation, RNA-Expression von BNP und der Gesamtproteingehalt untersucht und intrazelluläre Proteinveränderungen im Rahmen des Wnt Signalweges aufgezeigt.

Die Stimulationsexperimente zeigten, dass das Protein Wnt3a ausreichte, um eine differenzierte Hypertrophie der Kardiomyozyten zu induzieren. Diese Hypertrophie wurde durch die Aktivierung des kanonischen Wnt/ $\beta$ -catenin Signalweges vermittelt, die sich in der Stabilisierung von  $\beta$ -catenin widerspiegelte. Da eine erhöhte Genexpression von  $\beta$ -catenin auf RNA-Ebene nicht nachweisbar war, stellte somit die Hemmung des proteosomalen Abbaus den Grund für die Stabilisierung von  $\beta$ -catenin dar. Dieses Ergebnis wurde von den Beobachtungen unterstützt, dass die Akkumulation von  $\beta$ -catenin mit einer vermehrten Hemmung der GSK-3 $\beta$  einherging, die sich in der erhöhten Phosphorylierung von GSK-3 $\beta$  an Position Ser9 zeigte. Somit stellte die Phosphorylierung von GSK-3 $\beta$  mit der anschließenden Änderung der katalytischen Kinaseaktivität den wahrscheinlichen Hemmmechanismus von GSK-3 $\beta$  dar.

Die nachfolgenden Transduktionsexperimente mit den rekombinierten Adenoviren bestätigten unsere Beobachtungen aus den Stimulationsexperimenten mit Wnt3a. Die Überexpression von Dvl-1 führte jedoch neben der Stabilisierung von  $\beta$ -catenin und der erhöhten Phosphorylierung von GSK-3 $\beta$  an Position Ser9 auch zu einer Aktivierung des Akt/PKB Signalweges, die an der vermehrten Phosphorylierung von Akt an Position Ser473 erkennbar war.

Bei der Kombination der Transduktionsexperimente mit Dvl-1 mit einer Stimulation von Deguelin, einem Inhibitor der Akt, stellte sich heraus, dass Akt nicht die ausführende Kinase bei der Phosphorylierung von GSK-3 $\beta$  an Position Ser9 war, jedoch die Aktivierung des Wnt Signalweges unterstützte und förderte, sodass beide Signalwege synergetische Effekte auf die Kardiomyozyten ausübten.

In den Transduktionsexperimenten mit den Mutanten von Dvl-1 konnten wir nachweisen, dass alle Domänen essentiell waren für die Aktivierung des kanonischen Wnt/ $\beta$ -catenin Signalweges. Ferner waren die Domänen DIX und PDZ essentiell für die Aktivierung des Akt/PKB Signalweges, wohingegen die Transduktionsexperimente mit Dvl-1- $\Delta$ DEP zeigten, dass die Aktivierung des Akt/PKB Signalweges nicht ausreichte, um das Wnt Signal vollständig nachzuahmen. Für die synergetischen Effekte mussten beide Signalkaskaden aktiviert sein.

Diese Arbeit demonstriert wie bedeutsam der Wnt Signalweg für eine intrazelluläre Signalübertragung eines kardialen hypertrophen Stimulus ist. Zum einen scheint er auszureichen, um eine differenzierte Hypertrophie von Kardiomyozyten zu induzieren und zum anderen scheint er verschiedene Signaltransduktionswege wie den Akt/PKB Signalweg zu verbinden. Zur Ergänzung unserer *in vitro* Ergebnisse sollte jedoch noch ein *in vivo* Modell generiert werden, um die pathophysiologische Relevanz einer Überexpression von Dvl-1 zu bewerten.

Im Hinblick auf die Entwicklung neuer Therapiekonzepte bleibt in Zukunft noch zu evaluieren, ob eher die Stimulation von antihypertrophen Signalen, wie z.B. die Aktivierung von GSK-3 $\beta$ , oder die Hemmung von prohypertrophen Signalen, wie z.B. die Inhibition von Dvl-1, oder eine Kombination beider Verfahren sich als wirksam und effektiv bei der Therapie der kardialen Hypertrophie erweisen.